B

BIULETYN
URZĘDU PATENTOWEGO

Warszawa, dnia 24 czerwca 1996 r. Nr 13 (587) Rok XXIV

OGŁOSZENIA O ZGŁOSZONYCH W POLSCE

I. Wynalazkach do opatentowania
II. Wzorach użytkowych do ochrony

BEST AVAILABLE COPY

A1(21) 312122 (22) 95 12 30 6(51) A61K 7/48

(75) Przybylski Józef, Sopot; Kulczycki Adam, Sopot; Przybylska-Siemiaszko Krystyna Barbara, Sopot; Szybalski Mikołaj, Elbląg; Przybylski Paweł, Sopot

(54) **Sposób otrzymywania wodnych roztworów koleganu ze skór ryb słono- i słodkowodnych**

(57) Wynalazek rozwiązuje zagadnienie opracowania nowego sposobu otrzymywania wodnych roztworów kolagenu, nadających się do wykorzystania w recepturach środków kosmetycznych do zastosowań zewnętrznych.

Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych, przez znaną wstępną obróbkę mechaniczną oczyszczającą skór i wstępne usunięcie nadmiaru wody w drodze odsączenia charakteryzuje się tym, że skóry ryb zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody technologicznej zadaje się 1,0%-owym do 5,0%-owym wodnym roztworem kwasu askorbinowego, mającym temperaturę nie niższą od 283 K, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" utrzymywanym w przedziale od 1:3,5 do 1:5 lecz najkorzystniej wynoszącym 1:4. Prowadzi się ekstrakcję rozpuszczalnikową w temperaturze utrzymywanej w przedziale od 283 K do 293 K przez czas nie krótszy jak 18 godzin, najkorzystniej 24-36 godzin. Ekstrakt oddziela się od wyekstrahowanych skór i poddaje filtracji i dekantacji.

Opisano również sposoby, w których do ekstrakcji stosuje się roztwór kwasu bursztynowego lub kwasu octowego.

(4 zastrzeżenia)

OFFICIAL GAZETTE
Of PATENT OFFICE

Warsaw, 24 June 1996 No. 13 (587) Year XXIV

Advertisements of the following filings in Poland:
I. Inventions to be patented
II. Utility models to obtain protection

A1 (21)312122 (22)95 12 30 6(51) A61K 7/48

(75) Przybylski Józef, Sopot; Kulczycki Adam, Sopot; Przybylska-Siemaszko Krystyna Barbara, Sopot; Szybalski Mikołaj, Elbląg; Przybylski Paweł, Sopot.

(54) Method to obtain aqueous collagen solutions from freshwater and salt-water fish skins

(57) The invention solves the problem of elaborating a new method to obtain aqueous solutions of collagen, suitable for use in the prescriptions of cosmetics for external use.

The method to obtain aqueous collagen solutions from freshwater and salt-water fish skins, through known preliminary mechanical processing to wash the skins and preliminary removal of excess water through bleeding characterized in that the fish skins containing not more than 45% of gravitationally non-filtered process water are acidified with 1.0 to 5.0 % aqueous solution of ascorbine acid, at the temperature not lower than 283 K, used at weight ratio "wet skin - solution" maintained between 1:3.5 to 1:5, but preferably equal to 1:4. Solvent extraction is carried out at the temperature maintained between 283 to 293 K for a period not shorter than 18 hours, most preferably 24-38 hours. The extract is separated from extracted skins and subjected to filtration and decantation.

Methods have also been described where the solutions of succinic acid or acetic acid are used for extraction.

(4 claims)

312122

1

B

Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych.

Wynalazek dotyczy technologii otrzymywania przemysłowego wodnych roztworów kolagenu, przeznaczonych do zastosowań zewnętrznych poza medycznych, zwłaszcza do preparatów kosmetycznych typu tonic.

Znane są i stosowane liczne metody otrzymywania roztworów kolagenu zwierzęcego, polegające na wykorzystywaniu skór zwierzęcych i rybich. Znana jest między innymi metoda otrzymywania kolagenu ze skór młodych ssaków (głowy cieląt, embriony cielęce, wyporki poubojowe), w której po długotrwałej chemicznej obróbce wstępnej oraz obróbce mechanicznej, mającej na celu usunięcie zbędnych fragmentów mięśni i ścięgien oraz pozostałości tkanki kostnej, surowiec jest p rozdrobnieniu poddawany ekstrakcji wodnym roztworem kwasu organicznego lub kwasu b rowego. M toda ta jest bardzo czaso- i energochłonna (ze względu na konieczność energ chłonnego dwłosienia skór i ich wapnowania). W przypadku użycia do ekstrakcji kwasem organicznym lub kwasem borowym w tej metodzie odpadków skór z garbarni, otrzymany ekstrakt zawiera określoną ilość jonów chromu +3 i +6, pochodzących z procesu garbowania, co dyskwalifikuje ten ekstrakt do dalszych zastosowań zewnętrznych poza medycznych, na przykład kosmetycznych i zapobiegawczych.

Znany jest ponadto z polskiego opisu patentowego nr 144.584 sposób wytwarzania roztworu kolagenu, w którym wstępnie obrobione mechanicznie oraz zneutralizowane skóry ryb po mechanicznym usunięciu z podskórnej tkanki łącznej substancji tłuszczowych i mięsnych, dezynfekuje się 0,3%-wym roztworem wody utlenionej lub 0,8%-wym roztworem aldehydu mrówkowego, użytym w proporcji 1:1 w stosunku do skór rybich, po czym odwadnia się skóry zawartości wody utrzymywanej w przedziale od 55% do 65% wagowo. Tak odwodnione skóry poddaje się ekstrakcji roztworem kwasu cytrynowego przy utrzymywaniu wartości pH od 2,2 do 2,4 . Roztwór kwasu cytrynowego używa się w tej metodzie w ilości 4 części wagowych na 1 część wagową skór rybich, otrzymując w wyniku roztwór kolagenu o pH około 2,8 , najkorzystniej rzędu pH=2,8 . Otrzymany ekstrakt konserwuje się Aseptyną.

Znana i opisana metoda otrzymywania roztworu wodnego kolagenu według przytoczonego opisu patentowego polskiego (opracowana w roku 1~~0~~986), mimo że dobrze spełnia swoje przeznaczenie, prowadzi do trzymania ekstraktu charakteryzującego się zbyt niską wartością pH w stosunku do pH ludzkiej skóry.

Wynalazek rozwiązuje zagadnienie pracowania nowej prostej metody ekstrakcyjnej otrzymywania w przemysłowym procesie bezciśnieniowym, wodnych roztworów kolagenu, charakteryzujących się w szczególności korzystną dla ludzkiej skóry wartością pH i pozwalających na niczym nie ograniczone zastosowanie do poza medycznych środków aplikowanych zewnętrznie na skórę ludzką, mających zwłaszcza charakter toników, balsamów i kremów.

Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych, przez znaną wstępną obróbkę mechaniczną oczyszczającą skór i wstępne usunięcie nadmiaru wody w drodze odsączenia, według wynalazku charakterystyczny tym, że skóry ryb zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody technologicznej zadaje się 1,0%-wym do 5,0%-wym wodnym roztworem kwasu askorbinowego w temperaturze nie niższej jak 283 K, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór", utrzymywanym w przedziale od 1:3,5 do 1:5,0 lecz najkorzystniej wynoszącym 1:4 wagowo. Następnie prowadzi się ekstrakcję rozpuszczalnikową w temperaturze utrzymywanej w przedziale od 283 K do 293 K, przez czas nie krótszy jak 18 godzin, lecz najkorzystniej wynoszący 24 do 36 godzin. Otrzymany ekstrakt oddziela się od wyekstrahowanych skór filtracji podciśnieniowej pod ciśnieniem nie niższym jak 18 mm Hg, a następnie dekantacji otrzymując wodny roztwór kolagenu o pH 4,0 do pH 4,2, zawierający rozpuszczone białko wielkocząsteczkowe w ilości do 1,0% wagowo do 2,0% wagowo. W innym wariancie realizacji sposobu otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych, postępując jak opisano skóry ryb zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody, zadaje się od 1,0%-wym do 5,0%-wym wodnym roztworem kwasu bursztynowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" utrzymywanym w przedziale od 1:3,5 wagowo do 1:5 wagowo lecz najkorzystniej 1:4 wagowo , lub też 20%-wym do 30%-wym roztworem kwasu octowego, postępując dalej jak opisano.

Otrzymany wodny roztwór kolagenu jest najkorzystniej konfekcjonowany niezwłocznie w opakowania nieprzeźroczyste dla promieniowania słonecznego w widmie widzialnym.

Dzięki zastosowaniu w sposobie według wynalazku ekstrakcji roztworami kwasów: kwasem askorbinowym, kwasem bursztynowym i kwasem octowym oraz dzięki zastosowaniu odpowiednich stężeń rozpuszczalnika w stosunku do masy wilgotnych osączonych skór, okazało się możliwe uzyskanie wodnego roztworu kolagenu o właściwościach poprawionej aktywności biologicznej w stosunku do właściwości roztworów uzyskanych znanymi metodami, jak również poprawienie wydajności procesu w stosunku do wagi surowca wprowadzanego do procesu. Otrzymany roztwór ma odczyn (pH) w granicach 4,0 - 4,2 (4,5) , co wyklucza konieczność korekcji pH za pomocą substancji alkalicznych.

Wynalazek jest szczegółowo opisany na przykładach jego wykonania.

Przykład 1. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór pstrąga. Po wstępnym oczyszczeniu mechanicznym i odciśnięciu nadmiaru wody, świeże skóry pstrągowe zawierające nie więcej jak 45% nieodciśniętej wody technologicznej zadaje się 2% wodnym roztworem kwasu askorbinowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" jak 1:4. Ekstrakcję prowadzi się w temperaturze utrzymywanej w przedziale 290 - 295 K (17 -22°C) w czasie nie krótszym niż 18 godzin, najlepiej 24 - 36 godzin. Po określonym czasie oddziela się od wyekstrahowanych skór na drodze dekantacji i oczyszcza poprzez filtrację podciśnieniową, pod ciśnieniem nie niższym jak 18 mm Hg. Otrzymany produkt to około 2% roztwór wielkocząsteczkowego białka o pH wartości 4,2 - 4,5. Konserwuje się go aseptyną, dodaną w ilości 0,2% wagowych.

Przykład 2. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór dorsza. Po wstępnym oczyszczeniu mechanicznym i odsączeniu nadmiaru wody, świeże skóry dorsza zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody technologicznej, zadaje się 2% wodnym roztworem kwasu askorbinowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" wynoszącym 1:4. Ekstrakcję prowadzi się w temperaturze utrzymywanej w przedziale 290 - 295 K (17-22°C), w czasie 24 godzin. Ekstrakt oddziela się od wyekstrahowanych skór, poddając go dekantacji a następnie filtracji. Oczyszczony ekstrakt to około 2% roztwór wielkocząsteczkowego białka pH wartości 4,2 . Konserwuje się go dodając 2% wagowych kwasu rteb rowego (kwas borny - H_3BO_3) .

Przykład 3. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór mintaja. Po rozmrożeniu, wstępnym oczyszczeniu mechanicznym i odciśnięciu nadmiaru wody, skóry mintaja zawierające nie więcej jak 45% nieodciśniętej wody technologicznej, zadaje się 1,5% wodnym roztworem kwasu bursztynowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" jak 1:5 . Ekstrakcję prowadzi się w temperaturze 290 - 295 K (17-22°C) , w czasie 36 godzin. Po upływie 36 godzin ekstrakt oddziela się od wyekstrahowanych skór poprzez dekantację i oczyszcza poprzez filtrację podciśnieniową, pod ciśnieniem nie niższym jak 18 mm Hg. Otrzymany produkt to około 1,5% roztwór wielkocząsteczkowego białka o pH wartości 4,0 . Konserwuje się go poprzez dodanie 2% wagowych kwasu bornego.

Przykład 4. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór pstrąga. Po wstępnym oczyszczeniu mechanicznym i odsączeniu nadmiaru wody, skóry pstrągowe zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody technologicznej, zadaje się 3% wodnym roztworem kwasu octowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" jak 1:3,5 . Ekstrakcję prowadzi się w temperaturze 290-295 K (17 - 22°C) , w czasie 24 godzin. Po tym czasie ekstrakt oddziela się od skór poprzez dekantację i oczyszcza p przez filtrację. Otrzymany produkt to około 1,5% roztwór wielkocząsteczkowego białka o pH około 4,2 . Konserwuje się go jak opisano w przykładzie 1.

Oddzielenie ekstraktu od wyekstrahowanych skór pstrąga realizowane jest najkorzystniej przy użyciu sit potrząsalnych mechanicznych, a otrzymany wodny roztwór kolagenu jest konfekcjonowany niezwłocznie w opakowania nieprzeźroczyste dla promieniowania słonecznego w widmie widzialnym.

Wynalazek nadaje się do zastosowania w przemysłowych i laboratoryjnych procesach otrzymywania substratów kolagenowych w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym.

Józef Przybylski
Sopot-Polska
....
Adam Kulczycki
Sopot-Polska
....
Krystyna Barbara Przybylska-Siemaszko
Sopot-Polska
....
Mikołaj Szybalski
Elbląg-Polska
Mikołaj Szybalski
....
Paweł Przybylski
Sopot-Polska
....

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych, przez wstępną obróbkę mechaniczną oczyszczającą skór i wstępne usunięcie nadmiaru wody w drodze odsączenia znamienny tym, że skóry ryb zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody technologicznej, zadaje się 1,0%-wym do 5,0%-wym wodnym roztworem kwasu askorbinowego, mającym temperaturę nie niższą od 283 K, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" utrzymywanym w przedziale od 1:3,5 do 1:5, lecz najkorzystniej wynoszącym 1:4 wagowo, prowadzi się ekstrakcję rozpuszczalnikową w temperaturze utrzymywanej w przedziale od 283 K do 293 K, przez czas nie krótszy jak 18 godzin, lecz najkorzystniej wynoszący 24 - do 36 godzin, po czym ekstrakt oddziela się od wyekstrahowanych skór, poddaje się filtracji podciśnieniowej pod ciśnieniem nie niższym jak 18 mm Hg i dekantacji, otrzymując wodny roztwór kolagenu o pH 4,0 do pH 4,5, zawierający rozpuszczone wielkocząsteczkowe białko w ilości od 4,0% wagowo do 3,0% wagowo.

2. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych, przez wstępną obróbkę mechaniczną oczyszczającą skór i wstępne usunięcie nadmiaru wody w drodze odsączenia znamienny tym, że skóry ryb zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody technologicznej, zadaje się od 1,0%-wym do 5,0%-wym roztworem kwasu bursztynowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" utrzymywanym w przedziale od 1:,35 wagowo do 1:5 wagowo lecz najkorzystniej 1:4 wagowo, prowadzi się ekstrakcję rozpuszczalnikową w temperaturze utrzymywanej w przedziale od 283 K do 293 K, przez czas nie krótszy jak 18 godzin, lecz najkorzystniej wynoszący 24 - 36 godzin, po czym ekstrakt oddziela się od wyekstrahowanych skór, poddaje się filtracji podciśnieniowej pod ciśnieniem nie niższym jak 18 mm Hg i dekantacji, otrzymując wodny roztwór kolagenu o pH 4,0 do pH 4,2, zawierający rozpuszczone białko wielkocząsteczkowe w ilości od 1,0% wagowo do 3,0% wagowo.

3. Sposób otrzymywania wodnych roztworów kolagenu ze skór ryb słono- i słodkowodnych, przez wstępną obróbkę mechaniczną oczyszczającą skór i wstępne usunięcie nadmiaru wody w drodze odsączenia znamienny tym, że skóry ryb zawierające nie więcej jak 45% grawitacyjnie nieodsączonej wody zadaje się od 1,0%-wym do 5,0%-wym wodnym roztworem kwasu octowego, użytym w stosunku wagowym "skóra mokra-roztwór" utrzymywanym w przedziale od 1:3,5 wagowo do 1:5 wagowo lecz najkorzystniej 1:4 wagowo, prowadzi się ekstrakcję rozpuszczalnikową w temperaturze utrzymywanej

najkorzystniej w przedziale od 290 K do 295 K, przez czas nie krótszy jak 18 godzin, lecz najkorzystniej wynoszący 24 – 36 godzin, po czym roztwór oddziela się od wyekstrahowanych skór, poddaje się filtracji podciśnieniowej pod ciśnieniem nie niższym jak 18 mm Hg i dekantacji, otrzymując wodny roztwór kolagenu o pH 4,0 do pH 4,2 , zawierający rozpuszczone białko wielkocząsteczkowe w ilości od 1,0% wagowo do 3,0% wagowo .

4. Sposób wedł. zastrz. 1 lub 2 lub 3 znamienny tym, że otrzymany wodny roztwór kolagenu jest konfekcjonowany niezwłocznie w opakowania nieprzeźroczyste dla promieniowania słonecznego w widmie widzialnym.

Józef Przybylski
Sopot-Polska
....

Adam Kulczycki
Sopot-Polska
....

Krystyna Barbara Przybylska-Siemaszko
Sopot-Polska
.....Siemaszko.....

Mikołaj Szybalski
Elbląg-Polska
..Mikołaj Szybalski..

Paweł Przybylski
Sopot-Polska
....

B

312122

Method to obtain aqueous solutions of collagen from the skins of freshwater and salt-water fish

The subject matter of the invention is the method to obtain aqueous solutions of collagen from the skins of freshwater and salt-water fish.

The invention refers to the technology of industrial production of aqueous solutions of collagen, intended for external non-medical use, in particular for cosmetic preparations like tonics.

A number of methods are known and used to obtain solutions of animal collagen, which consist in the use of animal and fish skins. A method is know among others to obtain collagen from the skin of young mammals (calf heads, calf embryos, aborted post-slaughter fetuses), where after long preliminary chemical and mechanical processing, the aim of which is to remove inessential fragments of muscles and tendons and the remnants of bones, the raw material, after grinding, is subjected to extraction with aqueous solution of organic acid or boric acid. The method is very time consuming and energy inefficient (due to the necessity of energy-intensive removal of hair from the skins and to lime them). If skin waste from the tannery is used for extraction by organic acid or boric acid in this method, obtained extract contains a specified number of chromium ions +3 and +6, originating from the tanning process, which disqualifies the extract from further external non-medical applications, e.g. in cosmetics and for preventive purposes.

Furthermore, a production method of collagen solution is known from a Polish patent description no. 144.584, where fish skins, following their preliminary mechanical processing and neutralization, after mechanical removal of fat and flesh from the subcutaneous connective tissue, are disinfected with 0.3% hydrogen peroxide solution or 0.8% formaldehyde solution, used in 1:1 proportion to fish skins, after which skins are dehydrated to obtain water contents between 55 to 65% by weight. The dehydrated skins are subjected to extraction with the solution of citric acid maintaining pH value between 2.2 to 2.4. The citric acid solution is used in this method at 4 parts by weight to 1 part by weight of fish skins, consequently obtaining a collagen solution with pH of ca. 2.8, most preferably of pH=2.8. Obtained extract is preserved with aseptine.

A known and described method to obtain an aqueous collagen solution in accordance with the mentioned Polish patent description (elaborated in 1986), although serves its intended purpose, results in obtaining an extract whose pH value is too low compared to the pH of human skin.

The invention solves the problem of elaborating new simple method of extraction-based production in industrial unpressurized process of aqueous collagen solutions, characterized in particular by pH value that is friendly to human skin and permitting generally unlimited use for extra-medical substances applied externally to human skin, especially used as tonics, balms and creams.

The method to obtain aqueous collagen solutions from skins of freshwater and salt-water fish by means of a popular initial mechanical processing to wash the skins and initial removal of excess water through filtering, which, according to the invention, is characterized in that the skins of fish containing not more than 45% of non-filtered gravitationally process water are acidified with 1.0 to 5.0 % aqueous solution of ascorbic acid at the temperature not lower than 283 K, used at weight ratio "wet skin – solution" maintained between 1:3.5 to 1:5.0, but most preferably equal to 1:4 by weight. Next, solvent extraction is carried out at the temperature maintained between 283K to 293K, for time not shorter than 18 hours, but most preferably equal to 24 to 36 hours.
Obtained extract is separated from extracted skins through vacuum filtration under the pressure not lower than 18 mm Hg, and next subjected to decantation to obtain an aqueous solution of collagen with pH of 4.0 to 4.2, containing dissolved multimolecular protein at the amount of 1.0% to 2.0% by weight. In another version of the method to obtain aqueous collagen solutions from skins of freshwater and salt-water fish, the procedure is as for the described skins of fish containing not more than 45% of gravitationally non-filtered water, which are acidified with 1.0 to 3.0% aqueous solution of succinic acid, used in weight ratio "wet skin-solution" maintained between 1:3.5 to 1:5 by weight, but preferably 1:4 by weight, or else with 20 to 30% solution of acetic acid, continuing as described.

Obtained aqueous collagen solution is most preferably immediately packed into packaging units impermeable to the visible spectrum of solar radiation.

Thanks to the method of the invention using the solution of acids: ascorbine acid, succinic acid and acetic acid for extraction, and thanks to the use of adequate concentrations of the solvent compared to the weight of wet filtered skins, it was possible to obtain aqueous collagen solution with the quality of improved biological activity compared to the properties of solutions obtained through known methods, and to improve the efficiency of the process as regards the weight of raw material fed into the process. Obtained solution has a reaction (pH) between 4.0-4.2 (4.5), which excludes the necessity to correct pH by means of alkali substances.

The invention has been described in detail by working examples.

Example 1. The method to obtain aqueous collagen solutions from trout skins. After preliminary mechanical washing and squeezing excess water, fresh trout skins containing not more than 45% of non-squeezed process water are acidified with 2% aqueous solutions of ascorbine acid, used at weight ratio "wet skin-solution" of 1:4. The extraction is carried out at the temperature maintained between 290-295 K (17-22°C) during not less than 18 hours, preferably 24-36 hours. After a specified period, separation from extracted skins is carried out through decantation and washing through vacuum filtration, under the pressure not lower than 18 mm Hg. Obtained product is ca. 2% solution of multimolecular protein of pH between 4.2 and 4.5. It is preserved with aseptine added at 0.2% by weight.

Example 2. Method to obtain aqueous collagen solutions from cod skins. Following preliminary mechanical washing and bleeding of excess water, fresh cod skins containing not more than 45% of gravitationally non-filtered process water are acidified with 2% aqueous solution of ascorbic acid, used at weight ratio "wet skin-solution" equal to 1:4. Extraction is carried out at the temperature maintained between 290-295 K (17-22°C), during 24 hours. The extract is separated from the extracted skins, by subjecting it to decantation and next filtration. Washed extract is about 2% solution of multimolecular protein of pH equal to 4.2. It is preserved by adding 2% by weight of orthoboric acid (boric acid – H3BO3).

Example 3. The method to obtain aqueous collagen solution from walley pollack skins. After defrosting, preliminary mechanical washing and bleeding excess water, pollack skins containing not more than 45% of non-squeezed process water, are acidified with 1.5% aqueous solution of succinic acid, used at weight ratio "wet skin – solution" of 1:5. The extraction is carried out at 290-295 K (17-22°C), during 36 hours. After 36 hours the extract is separated from the extracted skins through decantation and washed through vacuum filtration, under the pressure not lower than 18 mm Hg. Obtained product is ca. 1.5% solution of multimolecular protein of pH equal to 4.0. It is preserved by adding 2% of boric acid by weight.

Example 4. Method to obtain aqueous collagen solutions from trout skins. After preliminary mechanical washing and bleeding excess water, trout skins containing not more than 45% of gravitationally non-filtered process water, are acidified with 3% aqueous solution of acetic acid, used at weight ratio "wet skin – solution" of 1:3.5. The extraction is carried out at 290-295 K (17-22°C), during 24 hours. Afterwards, the extract is separated from the skins through decantation and washed through filtration. Obtained product is ca. 1.5% solution of multimolecular protein of pH equal to ca. 4.2. It is preserved as in example 1.

Separation of the extract from extracted trout skins is preferably carried out by means of mechanical shaking sieve, and obtained aqueous collagen solution is immediately packed into packaging units that are impermeable to the visible spectrum of solar radiation.
The invention is suitable for use in industrial and laboratory processes to obtain collagen substrates for cosmetic and pharmaceutical industries.

Józef Przybylski
Sopot - Poland
/illegible signature/

Adam Kulczycki
Sopot - Poland
/illegible signature/

Krystyna Barbara Przybylska-Siemaszko
Sopot - Poland
/illegible signature/

Mikołaj Szybalski
Elbląg - Poland
/legible signature: Mikołaj Szybalski/

Paweł Przybylski
Sopot - Poland
/illegible signature/

Patent claims

1. The method to obtain aqueous collagen solutions from freshwater and salt-water fishes, through preliminary mechanical processing to wash the skins and preliminary removal of excess water through bleeding characterized in that the fish skins containing not more than 45% of gravitationally non-filtered process water are acidified with 1.0 to 5.0% aqueous solution of ascorbine acid, whose temperature is not lower than 283K, which is used at weight ratio "wet skin – solution" maintained between 1:3.5 to 1:5, but preferably equal to 1:4 by weight, solvent extraction is carried out at the temperature maintained between 283 to 293 K, for a period not shorter than 18 hours, but preferably equal to 24 to 36 hours, whereas the extract is separated from extracted skins, subjected to vacuum filtration under the pressure not lower than 18 mm Hg and to decantation, obtaining aqueous collagen solution of pH equal to 4.0 to 4.5, containing solved multimolecular protein at the amount of 4.0% to 3.0% by weight.
2. Method to obtain aqueous collagen solutions from the skins of freshwater and salt-water fishes, through preliminary mechanical processing to wash the skins and preliminary removal of excess water through bleeding characterized in that the fish skins containing not more than 45% of gravitationally non-filtered process water are acidified with 1.0 to 5.0% solution of succinic acid, used at weight ratio "wet skin – solution" maintained between 1:3.5 to 1:5 by weight, but preferably at 1:4 by weight, solvent extraction is carried out at the temperature maintained between 283 to 293 K, for a period not shorter than 18 hours, but preferably equal to 24 to 36 hours, after which the extract is separated from extracted skins, subjected to vacuum filtration under the pressure not lower than 18 mm Hg and to decantation, obtaining aqueous collagen solution of pH equal to 4.0 to 4.2, containing solved multimolecular protein at 1.0 to 3.0% by weight.
3. Method to obtain aqueous collagen solutions from the skins of freshwater and salt-water fishes, through preliminary mechanical processing to wash the skins and preliminary removal of excess water through bleeding characterized in that the fish skins containing not more than 45% of gravitationally non-filtered water are acidified with 1.0 to 5.0% solution of acetic acid, used at weight ratio "wet skin – solution" maintained between 1:3.5 to 1:5 by weight, but preferably at 1:4 by weight, solvent extraction is carried out at the temperature preferably maintained between 290 to 295 K, for a period not shorter than 18 hours, but preferably equal to 24 to 36 hours, after which the extract is separated from extracted skins, subjected to vacuum filtration under the pressure not lower than 18 mm Hg and to decantation, obtaining aqueous collagen solution of pH equal to 4.0 to 4.2, containing solved multimolecular protein at 1.0 to 3.0% by weight.

4. Method according to claim 1 or 2 or 3 wherein the obtained aqueous collagen solution is packed immediately into packaging units that are impermeable to the visible spectrum of solar radiation.

Józef Przybylski
Sopot – Poland
/illegible signature/
Adam Kulczycki
Sopot – Poland
/illegible signature/

Krystyna Barbara Przybylska-Siemaszko
Sopot – Poland
/illegible signature/

Mikołaj Szybalski
Elbląg – Poland
/legible signature: Mikołaj Szybalski/

Paweł Przybylski
Sopot – Poland
/illegible signature/

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: ______________________

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.
As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.